



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“Evaluación macroscópica e histológica de la bolsa de Fabricio y de los anticuerpos contra IBF en pollos de engorda, vacunados vía subcutánea e in ovo con la vacuna vectorizada compuesta con la cepa vHVT013-69 de la enfermedad de Marek y con el gen VP2 de IBF”

TESIS

Que para obtener el título de:  
Médico Veterinario Zootecnista

Presenta:  
Jonatan Ricardo Trejo Raya

Asesor:  
M. en C. Víctor Manuel Petrone García.

Cuautitlán Izcalli, Edo. De México, 2008.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## *AGRADECIMIENTOS*

*A mis padres Concepción Raya y Daniel Trejo por el legado más grande que pudiera recibir.*

*Al Dr. Víctor Petrone con profunda admiración y respeto.*

*A laboratorios Merial por las atenciones prestadas.*

*A mis tíos, primos y amigos por su apoyo incondicional.*

*A todos los profesores que me aportaron sus conocimientos, y a la UNAM...*

*Gracias.*

## ÍNDICE

Índice de abreviaturas.....	1
Resumen.....	2
Introducción.....	3
•Bolsa Cloacal.....	3
•Infección de la Bolsa de Fabricio.....	3
•Enfermedad de Marek.....	5
•Vacunas contra IBF y EM.....	6
•Vacunación in ovo.....	8
•Identificación de antígenos virales.....	8
Justificación.....	9
Objetivos.....	10
Materiales y Métodos.....	11
Resultados.....	15
•Serología.....	15
•Hallazgos Macroscópicos.....	16
•Hallazgos Microscópicos.....	19
Discusión y Conclusiones.....	20
Referencias.....	24

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<i>Abreviatura.</i>	<i>Significado.</i>
BC	Bolsa Cloacal, Bolsa de Fabricio.
IBF	Infección de la Bolsa de Fabricio.
VIBF	Virus de la Infección de la Bolsa de Fabricio.
EM	Enfermedad de Marek.
VEM	Virus de la Enfermedad de Marek.
IBC	Índice Bursocorporal.
IEB	Índice Esplenobursal.
ITC	Índice Timocorporal.
IEC	Índice Esplenocorporal.
HVT	Herpes virus del pavo ( <i>herpes virus turkey</i> ).
ELISA	Ensayo Inmuno Enzimático Absorbente ( <i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i> ).

## RESUMEN

“Evaluación macroscópica e histológica de la bolsa de Fabricio y de los anticuerpos contra la Infección de la Bolsa de Fabricio en pollos de engorda, vacunados vía subcutánea e *in ovo* con la vacuna vectorizada compuesta con la cepa vHVT013-69 de la enfermedad de Marek y con el gen VP2 de IBF”.

Se compararon los títulos de anticuerpos a nivel sérico contra la Infección de la Bolsa de Fabricio en pollos de engorda que fueron inmunizados con una vacuna vectorizada compuesta con la cepa vHVT013-69 de la enfermedad de Marek y con el gen VP2 de IBF y una vacuna bivalente compuesta por los virus HVT de EM y cepa Lucker de IBF. La vacunación se realizó vía subcutánea al día 1 de edad e *in ovo*, posteriormente fueron desafiados con una cepa vacunal de IBF de virulencia intermedia, a los 18 días de edad vía ocular. Se detectaron anticuerpos en suero por medio de la prueba de ELISA, cuyos títulos fueron más elevados en los pollos vacunados *in ovo* y vía subcutánea con la vacuna vectorizada que los inmunizados con la vacuna bivalente, en cuya respuesta no influyeron los anticuerpos maternos. Las aves inoculadas *in ovo* con la vacuna vectorizada presentaron mejor peso corporal, una mejor integridad de la BC y de un retardo en la presentación de atrofia y lesiones histológicas en dicho órgano al final del experimento, en comparación con las aves inoculadas vía subcutánea con la vacuna bivalente.

## INTRODUCCIÓN

### Bolsa Cloacal.

La Bolsa de Fabricio o Bolsa Cloacal (BC) es una estructura característica de las aves, es un derivado epitelial (ectodérmico) del proctodeo que conserva su conexión con la cloaca. La pared del órgano está muy replegada y cubierta por un epitelio simple o columnar pseudoestratificado. Los nódulos linfáticos están entre los pliegues del epitelio y parecen producir estructuras foliculares. Hay centros germinales (médula) y las regiones más oscuras se denominan áreas corticales (corona). La luz ramificada está rodeada de cúmulos de linfocitos B en desarrollo y macrófagos. <sup>(1)</sup>

En la BC, las células B progenitoras provenientes de la médula se dividen y diferencian en linfocitos B inmunocompetentes. La BC, como la médula ósea y el timo, desempeña funciones linfáticas primarias y secundarias. <sup>(1)</sup>

### Infección de la Bolsa de Fabricio.

La Infección de la Bolsa de Fabricio (IBF) es una enfermedad de origen viral de las aves jóvenes caracterizada por tener curso agudo altamente contagioso, ocasionando una atrofia de la BC y por ende un estado de inmunodepresión. La baja de defensas ocasionada por el virus de la Infección de la Bolsa de Fabricio (VIBF) se debe a la destrucción de dichos linfocitos y sus precursores, que presentan en su membrana moléculas de IgM's provocando inicialmente un problema inflamatorio, y posteriormente atrofia de la BC. <sup>(2,3)</sup>

El virus de la Infección de la Bolsa de Fabricio (VIBF) es un miembro de la familia *Birnaviridae*, ésta familia tiene un solo género: *Birnavirus*. El VIBF es altamente contagioso y puede permanecer en el medio ambiente por períodos prolongados, la transmisión puede ser directa o indirecta <sup>(1,5)</sup>. El VIBF está constituido

por cuatro proteínas que se denominaron VP1, VP2, VP3 y VP4; de las cuales la VP2 es la más abundante <sup>(3)</sup>. El VIBF es muy estable y puede permanecer en alojamientos aviares aún después de la limpieza y desinfección, es resistente al éter y cloroformo, es estable a pH de 3 a 12, se reduce su efectividad a la exposición con formalina al 0.5 % alrededor de 6 horas <sup>(4,6)</sup>. El VIBF se inactiva si se expone al fenol o cresol en concentraciones de 1 % durante 1 hora. <sup>(5)</sup>

La enfermedad tiene dos presentaciones: clínica y subclínica. Las cuales están determinadas, por la virulencia de la cepa viral, por la edad y el grado de inmunidad de las aves infectadas. <sup>(1,2)</sup>

La presentación clínica afecta aves de tres a seis semanas de edad. El primer indicio de la presentación clínica es que las aves se pican su propia cloaca, posteriormente se presenta diarrea acuosa y blanquecina, anorexia, depresión, erizamiento de las plumas, temores y postración, deshidratación severa e hipotermia <sup>(7,8)</sup>. La morbilidad puede alcanzar el 100 % y la mortalidad el 30 % <sup>(2)</sup>. Las cepas de alta virulencia del VIBF inducen a la presentación clínica de la enfermedad con alta morbilidad y mortalidad. <sup>(2)</sup>

Las infecciones con virus de baja y mediana virulencia, pueden originar la presentación subclínica de la enfermedad. Se presenta en aves menores de tres semanas, y es la que se presenta en México <sup>(9)</sup>. Se han descrito brotes donde únicamente se observa alteración en la ganancia de peso, no se manifiestan signos; sin embargo, tiene como grave consecuencia la presentación de inmunodepresión, donde se observa inflamación inicial y posteriormente atrofia de la BC. <sup>(1,9)</sup>

Las lesiones macroscópicas más importantes ocurren en el segundo y tercer día postinfección, donde la BC aumenta de tamaño, presenta trasudado gelatinoso que cubre su serosa, para el cuarto día puede alcanzar el doble de su peso, al quinto día retorna a



su tamaño original pero continua con un proceso de atrofia y de esta manera la BC llega a pesar hasta un tercio de lo normal. <sup>(10)</sup>

Las lesiones histológicas más importantes van desde una depleción linfoide moderada difusa, folículos aislados con depleción severa, depleción linfoide severa en más del 50% de los folículos, hasta la presencia únicamente del contorno de los folículos linfoides con sólo algunos linfocitos, aumento del tejido conectivo; presencia de quistes e hiperplasia del epitelio o pérdida completa de la arquitectura folicular con fibroplasia.

La inmunodepresión ocasionada por el VIBF se debe a la destrucción de linfocitos B, la cual en las aves produce un incremento en la susceptibilidad a algunas enfermedades infecciosas, como enfermedad crónica respiratoria complicada, enfermedad de Newcastle, hepatitis con cuerpos de inclusión, laringotraqueitis infecciosa aviar, anemia infecciosa aviar e infecciones por reovirus. También incrementa la susceptibilidad a *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dermatitis gangrenosa e infecciones por *Eimeria sp*. El problema ocasionado por IBF incrementa la susceptibilidad a otras infecciones, afecta la respuesta a vacunaciones contra varios agentes y afecta los parámetros productivos. <sup>(5,6,7)</sup>

### Enfermedad de Marek.

La Enfermedad de Marek (EM) es considerada una de las enfermedades linfoproliferativas más comunes en la industria avícola. Es una enfermedad neoplásica y de tropismo neurológico, inducida por un *herpes virus*, característica de pollo joven aunque también puede llegar a infectar aves adultas y es importante por la inmunodepresión que genera y se manifiesta de manera importante en aves adultas. El virus de la Enfermedad de Marek (VEM) se concentra en los folículos de las plumas y puede sobrevivir por muchos meses en la descamación de la piel y plumas. Tiene un

período de incubación de 2 semanas y las aves se infectan en pocos días por aerosoles y restos de piel o plumas. <sup>(11)</sup>

La EM tiene cinco presentaciones: nerviosa, ocular, visceral, cutánea y muscular. Causando una infiltración mononuclear en más de uno de estos tejidos, suele ver atrofia o tumoración difusa en la BC y timo. Existen tres serotipos con antígenos comunes, los cuales se distinguen con métodos serológicos, la virulencia y oncogenicidad se asocian al serotipo 1. Se caracteriza por engrosamiento e inflamación de nervios con tumoraciones viscerales, cutáneas y musculares. Se pueden ver engrosamientos en gónadas, hígado, bazo y ocasionalmente en corazón, pulmones y músculos. La mortalidad es elevada, pero puede fluctuar entre el 5 y el 45%, siendo la mortalidad más notoria antes de mostrar la signología característica de la enfermedad. Es común que se presente en parvadas de 8-18 semanas de edad con consecuencias económicas altas por la poca ganancia de peso de los animales que sobreviven. Es común observar pollos de postura de “salto de vallas” causado por la parálisis de uno de los miembros y las alas caídas. El “ojo de Marek” u ojo gris, se caracteriza por iridociclitis, decoloración del iris en parches y contracción pupilar. Luego se presenta emaciación, diarrea y muerte, además suelen presentar depresión, apatía, anorexia, parálisis y ataxia. En pollo la presentación cutánea causa muchos decomisos en rastro.   
(12,13,14)

#### Vacunas contra IBF y EM.

La inmunización activa de pollos de engorda contra IBF se lleva a cabo con vacunas que contienen virus modificados. Se han clasificado a las cepas virales vacunales, así como a las que producen infecciones de campo de IBF como suave (avirulentas), intermedia (mediana virulencia) y caliente (alta virulencia). Recientemente se han lanzado al mercado vacunas denominadas intermedias-plus, que son vacunas intermedias con un menor grado de atenuación, para su uso en parvadas de

pollo de engorda para la prevención de IBF altamente virulenta, o como “priming” en reproductoras. Las vacunas suaves son capaces de neutralizar altos niveles de anticuerpos maternos y no inducen los niveles adecuados, los otros dos tipos de vacunas son capaces de inducir niveles adecuados de anticuerpos; sin embargo se llegan a presentar lesiones bursales severas.<sup>(15)</sup>

Para la EM actualmente existen varios tipos de vacunas, como las vacunas elaboradas con virus vivo, su mecanismo es similar.<sup>(14,15)</sup> Estas vacunas inicialmente estaban elaboradas con herpesvirus de pavo, después con herpesvirus aviar serotipo 2 y recientemente con cepas poco virulentas del serotipo 1.

Las características de las vacunas se detallan a continuación:<sup>(11)</sup>

- A) Vacuna herpes virus del pavo (HVT). Esta vacuna ha sido la más utilizada hasta ahora; es una vacuna producida en fibroblastos de embrión de pollo.
- B) Vacuna a partir de un virus naturalmente apatógeno de enfermedad de Marek (SB1). Es una vacuna homóloga y, por lo tanto, la inmunidad que confiere es mucho más sólida.
- C) Vacunas con virus atenuado serotipo 1. Es una vacuna más agresiva y no se puede garantizar que por medio de pases en la población vacunada, no pueda recobrar su patogenicidad.
- D) Vacuna bivalente y trivalente contra la enfermedad de Marek. Aparentemente son las vacunas que más futuro tienen en la avicultura ya que están constituidas por dos o más serotipos: Bivalente: HVT (serotipo III) y SB-1 (serotipo II); Trivalente: HVT (serotipo III) y SB-1 (serotipo II) más VEM atenuado (serotipo I).

El concepto de vacunas recombinantes es el de insertar genes de epítomos inmunogénicos críticos de un agente infeccioso (IBF), en genes no esenciales de un vector (HVT - herpes virus del pavo). La vacunación con el virus recombinante resulta

en la inmunización tanto contra el vector como contra los epítomos expresados del agente infeccioso. <sup>(17)</sup>

#### Vacunación in ovo.

La vacunación *in ovo* es relativamente un sistema nuevo para la aplicación de vacunas aviares, en el cual los embriones, en su último estado de incubación, son inyectados con ciertas vacunas de virus vivo. Los virus vacunales no afectan la incubabilidad, y los pollitos incubados y vacunados en el huevo demuestran evidencia de una inmunidad protectora al nacer. La tecnología de la vacunación *in ovo* fue descrita por primera vez en 1982. A principios de 1990, la tecnología fue transferida a las incubadoras comerciales de pollo de engorda. Este sistema es utilizado en más de treinta países del mundo. Una sola máquina computarizada, con inyectores múltiples, puede vacunar por encima de 30 mil huevos por hora, con una dosis precisa administrada a cada huevo. Este método permite una superior uniformidad de entrega, menos estrés al ave y es más conveniente para el operador, comparado con las rutas tradicionales de aplicación, incluyendo la inoculación directa, aerosol o aplicación en el agua de bebida.

(18)

#### Identificación de antígenos virales.

Prueba de ELISA. "Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay" por sus siglas en inglés que significan Ensayo Inmuno Enzimático Absorbente. Es un estudio inmunológico de laboratorio que por medio de la detección de anticuerpos específicos puede para detectar diversos microorganismos, tales como virus o protozoarios, mediante el uso de reactivos. La prueba consiste en mostrar por una reacción coloreada, la presencia de moléculas que se ligan de manera específica a las proteínas purificadas del virus, combinando los antígenos purificados. Se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto, por ejemplo un colorante, puede ser medido

espectofotométricamente. Este método ha tenido una enorme aplicación en todos aquellos campos en los que se precisa la cuantificación de productos mediante anticuerpos: diagnóstico clínico, detección viral, clasificación de anticuerpos en isotipos, búsqueda de anticuerpos, etc. <sup>(19)</sup>

“The Synbiotics ProFLOK<sup>®</sup> PLUS Infectious Bursal Disease (IBD+) antibody ELISA kit” es una prueba serológica rápida y específica para la detección de anticuerpos de IBF en muestras de suero de pollos. Este gabinete detecta específicamente anticuerpos de IBF y demuestra una excelente correlación con la prueba de Virus Neutralización (VN). Además muestra una elevada especificidad para realizar pruebas de detección de anticuerpos de IBF pero no reacciona significativamente con anticuerpos contra otros antígenos. <sup>(20)</sup>

## **JUSTIFICACIÓN**

Las vacunas activas contra IBF al replicarse en la BC producen disminución del tejido linfoide y de la actividad del sistema inmune. Por lo que el uso de vacuna vectorizada que utiliza virus que se replica en BC, como el de la EM, y causa menos daño linfoide en edades tempranas, es muy útil para mejorar la productividad avícola. Por lo tanto una investigación dirigida a determinar el grado de daño bursal, así como la protección humoral y la evaluación de la integridad de la BC, de una vacuna vectorizada contra IBF tiene importancia relevante para la industria avícola nacional.

## **OBJETIVOS**

Evaluar la respuesta serológica, así como los índices bursales y tímicos (IBC, IEB, ITC, IET e IEC); y el diámetro de los folículos linfoides de la Bolsa Cloacal, en pollos de engorda inmunizados a los 18.5 días de incubación vía membrana amniótica y al primer día de nacimiento vía subcutánea con una vacuna vectorizada compuesta con la cepa vHVT013-69 de la enfermedad de Marek y con el gen VP2 de IBF y una vacuna bivalente conteniendo virus de la enfermedad de Marek cepa HVT y la cepa Lucker de IBF; y desafiados a los 18 días de edad, vía ocular con vacuna contra IBF con cepa de virulencia intermedia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Aves de experimentación.

Se utilizaron 300 aves Ross x Ross provenientes de una incubadora comercial, que fueron alimentadas con una dieta balanceada comercial y agua según las indicaciones del manual de la estirpe <sup>(21)</sup> y alojadas en una caseta experimental en el estado de Querétaro, México.

### Inmunógenos.

- Se utilizó vacuna vectorizada con el gen VP2 del virus de IBF incluida en virus HVT de EM “VAXXITEK®” (Laboratorio Merial México SA de CV, Querétaro México) con un título de 3000 unidades formadoras de placa (UFP) por ml.

- Una vacuna bivalente compuesta por los virus HVT de EM y cepa Lucker de IBF con títulos de 3000 UFP/ml y  $10^{-4.5}$  DIEP/ml respectivamente (Laboratorio Merial México S.A. de C.V., Querétaro México).

- Para producir un desafío se utilizó una cepa vacunal de IBF de virulencia intermedia, similar a la virulencia de las cepas de campo en México, a los 18 días de edad vía ocular con “BURSAVAC®” (Laboratorio Schering - Plough, Millsboro, Delaware, USA). Con un título EID 50% =  $10^{-4.5}$ .

### Diseño de tratamientos.

Se formaron al azar seis grupos de 50 pollos cada uno, el grupo C y F (testigos) se inocularon con diluyente vacunal, mientras los grupos A y D se les aplicó la vacuna bivalente; y a los grupos B y E la vacuna vectorizada (Cuadro 1). Para producir un desafío a

los 18 días se inocularon con 0.35 ml de la cepa vacunal de virulencia intermedia vía ocular.

**Cuadro 1. Diseño de tratamientos. Edad, tipo de vacuna, dosis y vía de aplicación.**

GRUPO	DÍAS DE INCUBACIÓN	INÓCULO	DOSIS	VÍA DE APLICACIÓN
A	18.5	HVT + IBF (bivalente)	0.05 ml	<i>In ovo</i>
B	18.5	HVT + IBF (vectorizada)	0.05 ml	<i>In ovo</i>
C (testigo)	18.5	Diluyente vacuna Marek	0.05 ml	<i>In ovo</i>
D	Nacimiento	HVT + IBF (bivalente)	0.2 ml	<i>Subcutáneo</i>
E	Nacimiento	HVT + IBF (vectorizada)	0.2 ml	<i>Subcutáneo</i>
F (testigo)	Nacimiento	Diluyente vacuna Marek	0.2 ml	<i>Subcutáneo</i>

**Registro de signos clínicos e indicadores productivos.**

Las aves de cada grupo fueron observadas diariamente para registrar signos clínicos y mortalidad. Así como obtener consumo de agua, alimento y peso corporal; para ganancia de peso, calcular índice de conversión e índice de producción.

**Toma de muestras.**

De cada grupo se obtuvo suero de sangre de 10 aves, proveniente de la vena radial, para análisis de ELISA y se tomaron órganos de 5 pollos para análisis histológico. Los sueros se conservaron a 4°C hasta su proceso. Los órganos para análisis histológico fueron: BC para medir el diámetro de los folículos linfoides ( $\mu\text{m}$ ), timos, bazo, proventrículo,



hígado, encéfalo, nervio ciático y corazón, los cuales se sumergieron en formalina al 10% amortiguada a un pH de 7.4. Las BC, timos y bazos, se pesaron y fijaron en formalina (Cuadro 2).

### **Análisis de laboratorio.**

Se realizaron análisis de ELISA para obtener títulos de anticuerpos contra IBF con el gabinete comercial “The Synbiotics ProFLOK<sup>®</sup> PLUS Infectious Bursal Disease (IBD+) antibody ELISA kit”<sup>(20)</sup>. También se realizaron análisis histológicos para obtener el diámetro en micrómetros ( $\mu\text{m}$ ) de los folículos linfoides de la BC.<sup>(3)</sup>

### **Método de eutanasia.**

Se sacrificaron 5 pollos por grupo según el calendario del cuadro 2. La técnica de eutanasia empleada fue la dislocación cervical, dicha técnica fue efectuada por un patólogo experto.<sup>(22)</sup>

### **Cálculo de índices bursales y tímicos.**

Se obtuvo el Índice Bursocorporal (IBC) dividiendo el peso de la bolsa cloacal entre el peso corporal multiplicado por 100 (g). El Índice Esplenobursal (IEB) se calculó dividiendo el peso de la bolsa sobre el del bazo (g). El Índice Timocorporal (ITC) se obtuvo dividiendo el peso del timo sobre el peso corporal multiplicado por 100 (g). El Índice Esplenotímico (IET) dividiendo el peso del timo sobre el peso del bazo (g); y el Índice Esplenocorporal (IEC) dividiendo el peso del bazo sobre el peso corporal multiplicado por 100 (g). A los 12, 24, 32 y 43 días de edad.<sup>(3, 23)</sup>

### Análisis estadístico.

Para los resultados de serología, IBC, IEB, ITC, IET, IEC, se les obtuvo el arcoseno de la raíz cuadrada y con los datos transformados se calculó el promedio, la desviación estándar, análisis de varianza y diferencias entre las medias con la prueba de Tukey<sup>(24,25,26)</sup>. Para la evaluación histológica del porcentaje de tejido linfoide, se realizó la prueba Kruskal-Wallis y las diferencias entre las medianas fueron evaluadas mediante la prueba U de Mann-Whitney<sup>(27)</sup>. El nivel de significancia se fijó en  $P < 0.05$ .<sup>(24,25)</sup>

**Cuadro 2. Toma de muestras para análisis de histología y serología de pollos de engorda vacunados vía *in ovo* y vía subcutánea.**

<b>PRUEBA</b>	<b>MUESTRAS</b>	<b>CANTIDAD</b>	<b>EDAD ( días)</b>
Serología	Suero	10	3, 12, 23, 31 y 43
Índices Corporales	BC, timos y bazo	5	12, 24, 32 y 43
Histología	BC, timos, bazo, proventrículo, hígado, encéfalo, nervio ciático y corazón.	5	3, 12, 23, 31 y 43

## RESULTADOS

### Serología.

En los pollos de de engorda vacunados *in ovo* (A, B, y C) a los 3 y 12 días de edad no se observó diferencia significativa ( $P>0.05$ ) en los títulos de anticuerpos contra IBF. A los 23 días de edad el grupo B fue mayor a los grupos A y C ( $P<0.05$ ). A los 31 días de edad se observó que en el grupo B el título de anticuerpos fue mayor a los grupos A y C ( $P<0.05$ ), mientras el grupo A fue mayor al grupo C. A los 43 días de edad el grupo A fue mayor a los grupos B y C ( $P<0.05$ ). (Cuadro 3).

Cuadro 3. Media (Desviación Estándar) de los títulos obtenidos por ELISA contra el virus de IBF en pollos de engorda vacunados *in ovo* (A, B Y C) y desafiados a los 18 días.

Grupo	Días de edad				
	3	12	23	31	43
A	16036 (883) <sup>a</sup>	11923 (1287) <sup>a</sup>	3003 (1708) <sup>b</sup>	8284 (1076) <sup>b</sup>	14882 (907) <sup>a</sup>
B	16682 (687) <sup>a</sup>	12422 (1134) <sup>a</sup>	7333 (1878) <sup>a</sup>	10154 (1400) <sup>a</sup>	13275 (797) <sup>b</sup>
C	16166 (492) <sup>a</sup>	11210 (1230) <sup>a</sup>	2548 (1283) <sup>b</sup>	548 (931) <sup>c</sup>	12922 (964) <sup>b</sup>

Líterales distintas dentro de la misma columna indican diferencia significativa ( $P<0.05$ )

En pollos de engorda vacunados vía subcutánea (D, E y F) a los 3, 12 y 43 días de edad no se observó diferencia significativa entre ellos ( $P>0.05$ ). A los 23 y 31 días de edad se observó que el grupo E tuvo mayor título de anticuerpos que los grupos D y F ( $P<0.05$ ). (Cuadro 4).

Cuadro 4. Media (Desviación Estándar) de los títulos obtenidos por ELISA contra el virus de IBF en pollos de engorda vacunados vía subcutánea (D, E y F) y desafiados a los 18 días.

Grupo	Días de edad				
	3	12	23	31	43

D	15457 (860) <sup>a</sup>	11100 (1685) <sup>a</sup>	2624 (1252) <sup>b</sup>	2593 (3706) <sup>b</sup>	13374 (1369) <sup>a</sup>
E	16267 (911) <sup>a</sup>	10282 (1443) <sup>a</sup>	6484 (4391) <sup>a</sup>	10469 (4514) <sup>a</sup>	14389 (938) <sup>a</sup>
F	16299 (594) <sup>a</sup>	9283 (1897) <sup>a</sup>	1387 (913) <sup>b</sup>	6949 (3263) <sup>b</sup>	14120 (1029) <sup>a</sup>

Literales distintas dentro de la misma columna indican diferencia significativa (P<0.05)

Hallazgos Macroscópicos.

Al calcular el Índice Bursocorporal, Índice Esplenobursal, Índice Timocorporal, Índice Esplenotímico e Índice Esplenocorporal, se observó lo siguiente:

En pollos de engorda vacunados *in ovo* (A, B y C) a los 12 y 24 días de edad no se observó diferencia significativa (P>0.05) en cada uno de los índices analizados. (Cuadro 5 y 6).

Cuadro 5. Media (Desviación Estándar) de los índices Bursocorporal (IBC), Esplenobursal (IEB), Timocorporal (ITC), Esplenotímico (IET) y Esplenocorporal (IEC) a los 12 días de edad en pollos de engorda vacunados *in ovo* y desafiados a los 18 días.

Grupo	IBC	IEB	ITC	IET	IEC
A	0.178 (0.028) <sup>a</sup>	1.881 (0.361) <sup>a</sup>	0.552 (0.047) <sup>a</sup>	5.861 (1.162) <sup>a</sup>	0.098 (0.025) <sup>a</sup>
B	0.226 (0.066) <sup>a</sup>	2.600 (0.883) <sup>a</sup>	0.532 (0.125) <sup>a</sup>	6.091 (1.643) <sup>a</sup>	0.093 (0.030) <sup>a</sup>
C	0.172 (0.022) <sup>a</sup>	2.071 (0.428) <sup>a</sup>	0.572 (0.149) <sup>a</sup>	7.062 (2.980) <sup>a</sup>	0.086 (0.020) <sup>a</sup>

Literales distintas dentro de la misma columna indican diferencia significativa (P<0.05)

Cuadro 6. Media (Desviación Estándar) de los índices Bursocorporal (IBC), Esplenobursal (IEB), Timocorporal (ITC), Esplenotímico (IET) y Esplenocorporal (IEC) a los 24 días de edad en pollos de engorda vacunados *in ovo* y desafiados a los 18 días.

Grupo	IBC	IEB	ITC	IET	IEC
A	0.205 (0.044) <sup>a</sup>	2.471 (0.778) <sup>a</sup>	0.507 (0.098) <sup>a</sup>	6.386 (3.302) <sup>a</sup>	0.087 (0.019) <sup>a</sup>
B	0.212 (0.072) <sup>a</sup>	2.846 (1.080) <sup>a</sup>	0.740 (0.081) <sup>a</sup>	10.003 (1.72) <sup>a</sup>	0.076 (0.013) <sup>a</sup>
C	0.212 (0.035) <sup>a</sup>	2.404 (0.759) <sup>a</sup>	0.570 (0.220) <sup>a</sup>	6.458 (3.406) <sup>a</sup>	0.094 (0.031) <sup>a</sup>

Literales distintas dentro de la misma columna indican diferencia significativa (P<0.05)

En pollos de engorda vacunados *in ovo* (A, B y C) a los 32 días de edad se observó en el IBC que el grupo B, fue mayor al grupo A y C (P<0.05), mientras que el grupo C fue mayor al grupo A; en el IEB el grupo B fue mayor a los grupos A y C (P<0.05). En el IET se observó que el grupo B fue mayor a los grupos A y C (P<0.05), mientras que el grupo A

fue mayor al grupo C. En el ITC así como en el IEC no se observó diferencia significativa entre los tres grupos ( $P>0.05$ ). (Cuadro 7).

Cuadro 7. Media (Desviación Estándar) de los índices Bursocorporal (IBC), Esplenobursal (IEB), Timocorporal (ITC), Esplenotímico (IET) y Esplenocorporal (IEC) a los 32 días de edad en pollos de engorda vacunados *in ovo* y desafiados a los 18 días.

Grupo	IBC	IEB	ITC	IET	IEC
A	0.081 (0.006) <sup>b</sup>	0.793 (0.172) <sup>a</sup>	0.587 (0.159) <sup>a</sup>	5.539 (0.820) <sup>b</sup>	0.106 (0.019) <sup>a</sup>
B	0.224 (0.068) <sup>c</sup>	2.310 (0.962) <sup>b</sup>	0.632 (0.109) <sup>a</sup>	6.596 (1.975) <sup>c</sup>	0.104 (0.036) <sup>a</sup>
C	0.155 (0.017) <sup>a</sup>	1.204 (0.276) <sup>a</sup>	0.477 (0.040) <sup>a</sup>	3.765(1.133) <sup>a</sup>	0.137 (0.048) <sup>a</sup>

Literales distintas dentro de la misma columna indican diferencia significativa ( $P<0.05$ )

En pollos de engorda vacunados *in ovo* (A, B y C) de 43 días de edad se observó que tanto en el IBC como en el IEB el grupo B fue mayor a los grupos A y C ( $P<0.05$ ). Mientras que en el ITC, IET e IEC no se observó diferencia significativa ( $P>0.05$ ) entre los tres grupos. (Cuadro 8).

Cuadro 8. Media (Desviación Estándar) de los índices Bursocorporal (IBC), Esplenobursal (IEB), Timocorporal (ITC), Esplenotímico (IET) y Esplenocorporal (IEC) a los 43 días de edad en pollos de engorda vacunados *in ovo* y desafiados a los 18 días.

Grupo	IBC	IEB	ITC	IET	IEC
A	0.051 (0.006) <sup>a</sup>	0.375 (0.063) <sup>a</sup>	0.432 (0.105) <sup>a</sup>	3.143 (0.617) <sup>a</sup>	0.137 (0.018) <sup>a</sup>
B	0.167 (0.021) <sup>b</sup>	1.443 (0.425) <sup>b</sup>	0.437 (0.083) <sup>a</sup>	3.774 (1.140) <sup>a</sup>	0.121 (0.026) <sup>a</sup>
C	0.060 (0.012) <sup>a</sup>	0.431 (0.155) <sup>a</sup>	0.434 (0.102) <sup>a</sup>	3.053 (0.953) <sup>a</sup>	0.148 (0.028) <sup>a</sup>

Literales distintas dentro de la misma columna indican diferencia significativa ( $P<0.05$ )

En pollos de engorda vacunados vía subcutánea (D, E y F) de 12, 24 y 32 días de edad no se observó diferencia significativa ( $P>0.05$ ) en ninguno de los índices analizados (IBC, IEB, ITC, IET, IEC). (Cuadro 9,10 y 11).

Cuadro 9. Media (Desviación Estándar) de los índices Bursocorporal (IBC), Esplenobursal (IEB), Timocorporal (ITC), Esplenotímico (IET) y Esplenocorporal (IEC) a los 12 días de edad en pollos de engorda vacunados vía subcutánea y desafiados a los 18 días.

Grupo	IBC	IEB	ITC	IET	IEC
D	0.169 (0.080) <sup>a</sup>	1.549 (0.831) <sup>a</sup>	0.564 (0.058) <sup>a</sup>	5.218 (0.693) <sup>a</sup>	0.110 (0.023) <sup>a</sup>
E	0.231 (0.043) <sup>a</sup>	2.130 (0.155) <sup>a</sup>	0.558 (0.115) <sup>a</sup>	5.232 (0.832) <sup>a</sup>	0.109 (0.027) <sup>a</sup>
F	0.212 (0.044) <sup>a</sup>	2.148 (0.788) <sup>a</sup>	0.560 (0.094) <sup>a</sup>	5.588 (1.443) <sup>a</sup>	0.102 (0.013) <sup>a</sup>

Literales distintas dentro de la misma columna indican diferencia significativa (P<0.05)

Cuadro 10. Media (Desviación Estándar) de los índices Bursocorporal (IBC), Esplenobursal (IEB), Timocorporal (ITC), Esplenotímico (IET) y Esplenocorporal (IEC) a los 24 días de edad en pollos de engorda vacunados vía subcutánea y desafiados a los 18 días.

Grupo	IBC	IEB	ITC	IET	IEC
D	0.232 (0.046) <sup>a</sup>	2.788 (0.782) <sup>a</sup>	0.694 (0.141) <sup>a</sup>	8.431 (2.767) <sup>a</sup>	0.089 (0.030) <sup>a</sup>
E	0.183 (0.053) <sup>a</sup>	2.249 (0.845) <sup>a</sup>	0.727 (0.060) <sup>a</sup>	8.995 (2.646) <sup>a</sup>	0.085 (0.018) <sup>a</sup>
F	0.246 (0.051) <sup>a</sup>	2.613 (0.431) <sup>a</sup>	0.793 (0.129) <sup>a</sup>	8.482 (1.351) <sup>a</sup>	0.094 (0.014) <sup>a</sup>

Literales distintas dentro de la misma columna indican diferencia significativa (P<0.05)

Cuadro 11. Media (Desviación Estándar) de los índices Bursocorporal (IBC), Esplenobursal (IEB), Timocorporal (ITC), Esplenotímico (IET) y Esplenocorporal (IEC) a los 32 días de edad en pollos de engorda vacunados vía subcutánea y desafiados a los 18 días.

Grupo	IBC	IEB	ITC	IET	IEC
D	0.129 (0.085) <sup>a</sup>	0.784 (0.405) <sup>a</sup>	0.627 (0.132) <sup>a</sup>	4.085 (0.940) <sup>a</sup>	0.159 (0.043) <sup>a</sup>
E	0.163 (0.089) <sup>a</sup>	1.109 (0.534) <sup>a</sup>	0.531 (0.076) <sup>a</sup>	3.832 (1.074) <sup>a</sup>	0.147 (0.037) <sup>a</sup>
F	0.072 (0.009) <sup>a</sup>	0.610 (0.145) <sup>a</sup>	0.664 (0.051) <sup>a</sup>	5.646 (1.383) <sup>a</sup>	0.123 (0.027) <sup>a</sup>

Literales distintas dentro de la misma columna indican diferencia significativa (P<0.05)

En pollos de engorda vacunados vía subcutánea (D, E y F) de 43 días de edad, se observó que en el IBC e IEB el grupo E fue mayor a los grupos D y F (P<0.05). Mientras que en el IEB, ITC, IET e IEC no se observó diferencia significativa entre los grupos (P>0.05). (Cuadro 12).

Cuadro 12. Media (Desviación Estándar) de los índices Bursocorporal (IBC), Esplenobursal (IEB), Timocorporal (ITC), Esplenotímico (IET) y Esplenocorporal (IEC) a los 43 días de edad en pollos de engorda vacunados vía subcutánea y desafiados a los 18 días.

Grupo	IBC	IEB	ITC	IET	IEC
-------	-----	-----	-----	-----	-----

D	0.059 (0.012) <sup>a</sup>	0.594 (0.186) <sup>a</sup>	0.440 (0.078) <sup>a</sup>	4.337 (0.965) <sup>a</sup>	0.104 (0.020) <sup>a</sup>
E	0.140 (0.058) <sup>b</sup>	1.083 (0.518) <sup>b</sup>	0.638 (0.167) <sup>a</sup>	5.093 (1.975) <sup>a</sup>	0.136 (0.043) <sup>a</sup>
F	0.065 (0.030) <sup>a</sup>	0.484 (0.115) <sup>a</sup>	0.547 (0.209) <sup>a</sup>	4.269 (1.481) <sup>a</sup>	0.134 (0.041) <sup>a</sup>

Literales distintas dentro de la misma columna indican diferencia significativa (P<0.05)

### Hallazgos Microscópicos.

En pollos de engorda vacunados *in ovo* (A, B y C) no se observó diferencia significativa (P>0.05) en el diámetro de los folículos linfoides (µm) a los 3, 12 y 23 días de edad. A los 31 y 43 días de edad se observó que el grupo B fue mayor a los grupos A y C (P<0.05). (Cuadro 13).

Cuadro 13. Media (Desviación Estándar) de la medición del diámetro de los folículos linfoides (µm) en pollos de engorda vacunados *in ovo* (A, B Y C) y desafiados a los 18 días.

Grupo	Días de edad				
	3	12	23	31	43
A	21.5 (3.064) <sup>a</sup>	41.3 (4.572) <sup>a</sup>	62.625(4.838) <sup>a</sup>	42.8 (6.494) <sup>b</sup>	48.6 (8.553) <sup>b</sup>
B	22.6 (2.068) <sup>a</sup>	40.2 (5.245) <sup>a</sup>	62.7 (7.072) <sup>a</sup>	72.8 (15.761) <sup>a</sup>	85 (10.801) <sup>a</sup>
C	22.875(2.588) <sup>a</sup>	39.8 (5.051) <sup>a</sup>	60.9 (8.266) <sup>a</sup>	49.2 (6.957) <sup>b</sup>	47.8 (6.443) <sup>b</sup>

Literales distintas dentro de la misma columna indican diferencia significativa (P<0.05)

En pollos de engorda vacunados vía subcutánea (D, E y F) no se observó diferencia significativa (P>0.05) en el diámetro de los folículos linfoides (µm) a los 3, 12 y 23 días de edad. A los 31 y 43 días de edad se observó que el grupo E fue mayor que los grupos D y F (P<0.05). (Cuadro 14).

Cuadro 14. Media (Desviación Estándar) de la medición del diámetro de los folículos

linfoides ( $\mu\text{m}$ ) en pollos de engorda vacunados vía subcutánea (D, E y F) y desafiados a los 18 días.

Grupo	Días de edad				
	3	12	23	31	43
D	25.6 (2.914) <sup>a</sup>	44.8 (4.780) <sup>a</sup>	63.3 (5.208) <sup>a</sup>	43.2 (7.480) <sup>b</sup>	51.12(11.667) <sup>b</sup>
E	25.3 (2.584) <sup>a</sup>	40.2 (2.440) <sup>a</sup>	64.1 (4.977) <sup>a</sup>	60.6 (22.628) <sup>a</sup>	84.9 (25.809) <sup>a</sup>
F	24.3 (3.199) <sup>a</sup>	42.7 (5.078) <sup>a</sup>	66.8 (4.872) <sup>a</sup>	49.3 (4.498) <sup>b</sup>	45.5 (11.208) <sup>b</sup>

Literales distintas dentro de la misma columna indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ )

En timos, bazo, proventrículo, hígado, encéfalo, nervio ciático y corazón no se encontraron alteraciones.



## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

### Serología.

El establecimiento de la edad de vacunación y de desafío se determinaron con el fin de simular condiciones frecuentes en campo, en la cual las aves se deben vacunar con cierto nivel de anticuerpos maternos y con el riesgo de un eventual desafío con virus patógenos. <sup>(23)</sup>

Se ha determinado que cerca del 60 al 80% de los niveles de anticuerpos de las madres se transfiere al pollito. Esto en términos simples significaría que una gallina con un título de anticuerpos neutralizantes de 1000, en pruebas de ELISA produciría pollitos que tendrían títulos de 600 a 800. <sup>(9)</sup>

Se debe tratar que las reproductoras transfieran inmunidad a la progenie ya que los anticuerpos maternos protegerán al pollito aproximadamente 1 a 5 semanas dependiendo del nivel de estos al ser transferidos. Debe tomarse en cuenta que cuando los títulos sean dispares debe aplicarse la vacunación con el fin de proteger a la mayoría de la parvada. Las vacunas suaves de IBF son pobres en su invasión de la BC, pero pueden ser neutralizadas por niveles altos de anticuerpos maternos. Las vacunas altamente patógenas de IBF son sumamente invasivas y no interfieren con ella anticuerpos maternos. Existen vacunas emulsionadas inactivadas de IBF, las cuales se utilizan en progenitoras ó reproductoras con el fin de que al ser más persistentes los anticuerpos, estos sean transferidos a su progenie y los protejan de la infección durante los primeros días de vida.

(28)

Cuando se trata de aves con altos títulos de anticuerpos maternos Lukert <sup>(9,29)</sup> sugiere la instrumentación de programas de vacunación múltiple. La primera dosis podría aplicarse alrededor del primer día, vía subcutánea, con un virus activo ya sea utilizando una cepa suave o una intermedia, ya que esta medida podría estimular a una respuesta inmune aún con niveles de anticuerpos maternos mayores de 500, mientras que, con la administración en agua u ocular no se podría lograr lo anterior. Posteriormente se podría aplicar una segunda vacunación entre los 7 a 9 días después de la primera vacunación y de ser necesario una tercera de 14 a 16 si es que el nivel de desafío en la granja es muy alto.

En aves reproductoras se recomienda vacunar entre cuatro a diez semanas de edad con virus vivo atenuado, y a las 16 semanas con vacuna inactivada, para que den protección a la progenie durante las primeras tres a cinco semanas de vida, en que las aves son más susceptibles a la inmunodepresión. <sup>(30)</sup>

Los pollos, tanto los vacunados *in ovo* como los vacunados vía subcutánea con vacuna vectorizada, mostraron mayor cantidad de anticuerpos al día 23 y 31 de edad, esto se puede deber a una mejor integridad del sistema inmune, lo cual es una respuesta no descrita por otros autores, ya que no se había trabajado con una vacuna compuesta por Marek e IBF <sup>(31,32)</sup>. Sin embargo, la respuesta inmune de la vacuna bivalente a los 43 días de edad es mayor en la vacunación *in ovo* y similar en la vacunación vía subcutánea. La respuesta tardía de anticuerpos producida por la vacuna bivalente, puede resultar poco protectora, ya que se produce 15 días después del desafío. Esto concuerda con Cascante, que se refiere a la vacunación bivalente ya que él tampoco encontró diferencia en el uso de esta vacuna vía subcutánea. <sup>(33)</sup>

Hallazgos Macroscópicos.

Varios autores han discutido la importancia de la IBF sobre la ganancia de peso, por ejemplo Van der Sluis <sup>(6)</sup>, menciona que en brotes poco severos únicamente se observa una disminución en la ganancia de peso, falta de uniformidad y muerte por otras causas. Por su parte McIlroy et al., <sup>(10)</sup> determinaron que parvadas sanas tuvieron un peso superior en 10% en comparación con las parvadas afectadas por la forma subclínica de IBF.

El IBC e IEB indicaron que las BC estaban más grandes en las aves inoculadas *in ovo* con la vacuna vectorizada, esto sugiere que la inoculación *in ovo* y la vacuna vectorizada protegieron la integridad bursal al desafío; lo que contrasta con las aves inoculadas vía subcutánea con la vacuna bivalente, ya que la BC de estas aves fue más chica que incluso los testigos. De la misma manera se observó el efecto de la vacuna vectorizada vía subcutánea, pero sólo a los 43 días de edad; sin embargo, el grupo con vacuna vectorizada no mostró diferencia por esta vía de inoculación con la vacuna bivalente. Esto concuerda con Cascante, quien tampoco encontró diferencias en las aves inoculadas con la misma vacuna y por la misma vía de aplicación. <sup>(33)</sup> En la vía de inoculación *in ovo* se encontró a los 32 días de edad que los pollos inoculados con la vacuna vectorizada presentaron timos más grandes que los otros dos grupos, esto sugiere, que la vacuna vectorizada también tiene un efecto protector sobre el timo, esto se puede ver ya que se ha informado de lesiones tímicas producidas por el virus de IBF. <sup>(33,34)</sup> La vacuna bivalente también protegió al timo pero en menor grado.

#### Hallazgos Microscópicos.

Los folículos linfoides se encontraron disminuidos en su diámetro ( $\mu\text{m}$ ), debido al virus de IBF, por lo que son el indicador más importante para evaluar la protección vacunal <sup>(34,35,36)</sup>. En la presente investigación se encontró en la vacuna vectorizada, tanto en la

vacunación *in ovo* como en la vía subcutánea, mayor cantidad de tejido linfoide en los días 31 y 43 de edad, que en los pollos a los que se les aplicó la vacuna bivalente y los testigos. Esto indica que la vacuna vectorizada protegió de forma importante la integridad histológica de la BC frente al desafío.

En respuesta a lo anterior se debe de tener en mente que al momento de realizar una evaluación de la integridad y funcionalidad del sistema inmune de las aves, se deben tomar en cuenta todos los datos aportados por el examen morfológico macro y microscópico, el comportamiento de los anticuerpos contra IBF y otras enfermedades, así como los parámetros productivos.<sup>(37)</sup>

En el presente trabajo se pudo concluir dos hechos:

- Que los anticuerpos maternos no influyeron en la respuesta serológica producida por la vacuna recombinante o la vacuna bivalente, ya que dichos anticuerpos no neutralizaron a los anticuerpos vacunales.
- La vacuna recombinante tuvo mejor respuesta serológica al desafío que la vacuna bivalente. Además de conservar una mejor integridad bursal macroscópica e histológica.

## REFERENCIAS

1. Lukert PD, Saif YM. Infectious bursal disease. In: Calnek BW, editor. Diseases of poultry. Ames (IA): Iowa State University Press, 2003: 648-663.
2. Okoye JOA, Phil M. Infectious Bursal Disease of Chickens. Vet. Bull 1984; 54: 425- 436.
3. Banda A. Obtención, serotipificación y caracterización de la virulencia de tres aislamientos de campo del virus de la Infección de la Bolsa de Fabricio (VIBF) en México. (Tesis de Maestría) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 1996.
4. Saif YM. Immunosuppression induced by infectious bursal disease virus. Vet Immunol Immunopathol, 1991: 45-50.
5. Rosenberger JK. El papel de la IBF en la inmunosupresión. World Poultry 1995; (Suplemento Gumboro):7.
6. Van der Sluis W. El virus de la infección de la bolsa de Fabricio: destructor del sistema inmune. World Poultry 1995; (Suplemento Gumboro): 4-6.
7. Snyder DB. Changes in the field status of infectious bursal disease virus. Avian Pathol 1990; 19:419-423.
8. Mazariegos LA, Luckert PD, Brown J. Pathogenicity and immunosuppressive properties of infectious bursal disease “intermediate” strains. Avian Dis 1990; 34:203-208.
9. Lukert PD. Infectious bursal disease: Past, present and future. Proceedings of the International Poultry Symposium Summit on Infectious Bursal Disease; 1995 April 3-4; Athens (GA). Athens (GA): University of Georgia, 1995: 33-34.
10. McIroy SG, Goodall EA, McCracken RM. Economic effects of subclinical infectious bursal disease on broiler production. Avian Pathol 1989; 18: 465-480.

11. Calnek BW, Witter RL. Disease of Poultry. 10<sup>th</sup> edition. Ames: Iowa State University Press; 1997:379-413.
12. Jordan F. Poultry Diseases. 5<sup>th</sup> edition. Ed. W.B. Saunders; 2001: 221-230.
13. Vindevogel H, Pastoret P. Pathogenesis of herpesvirus infection. J. Comp. Pathol 91; 1981: 415-429.
14. Payne LN, Venugopal K. Neoplastic disease: Marek´s disease, avian leucosis and reticuloendotheliosis. Scientific and technical review. OIE 2000; 19: 544-562.
15. Pastoret P. Veterinary Vaccinology. Ed. Elsevier. 1997.
16. Jackson CA. Proventriculitis, “nakanuke” and reticuloendotheliosis in chickens following vaccination with herpesvirus of turkeys (HVT). Aust. Vet. J., 53:457-459.
17. Guitet M. Safety of vaccines: Assessment of an Acceptability Threshold. Dev. Biol. Standard, Vol. 79. 1992.
18. [manualmoderno.com](http://www.manualmoderno.com) [Página de inicio]. Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. D.R. © 2007. [Citada 20 Ago 2007]. Disponible en:  
<http://www.manualmoderno.com/>
19. Muskett JC, Hopkins JG, Edwards KR, Thornton DH. Comparison of two infectious bursal disease vaccine strains: efficacy and potential hazards in susceptible and maternally immune birds. Vet Rec 1979; 14: 332-334.
20. ProFLOK<sup>®</sup> PLUS Infectious Bursal Disease (IBD+) Antibody ELISA kit. Synbiotics Corporation.
21. North MO, Bell DD. Manual de producción avícola. México, D.F.: El manual moderno, 1993.
22. AVMA Guidelines on Euthanasia (Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia). June 2007. [citada 20 Ago 2007]. Disponible en:  
[http://www.avma.org/issues/animal\\_welfare/euthanasia.pdf](http://www.avma.org/issues/animal_welfare/euthanasia.pdf)

23. Guerrero RC. Evaluación del daño bursal mediante el índice bursal, el rango tarso bursal y el estudio histopatológico en pollos de engorda vacunados contra la infección de la bolsa de Fabricio. (Tesis de Licenciatura) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1993.
24. Marriot FHC. The interpretation of multiple observation. Londres (UK): Academic Press, 1974.
25. Daniel W. Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud. 3ª ed. México, D.F.: Limusa, 1987.
26. Zar J. Bioestatistical analisis 2th. Prentice – Hall Inc. Eglewood Clifts: New Jersey, 1996.
27. Méndez RI. Modelos estadísticos lineales. 2ª. Ed. México (DF): CONACYT, 1981.
28. García O. Aspectos clínicos e histopatológicos en la prevención de la infección de la Bolsa de Fabricio. (Tesis de Licenciatura) México (DF) México: FES-Cuautitlán. UNAM 1985.
29. Benton WJ, Cover M.S, Rosenberger JK, Lake RS. Physicochemical properties of the infectious bursal agent (IBA). Avian Dis 1967; 11: 438-445.
30. Rojo E. Enfermedades de las aves. 2ª. Edición. Editorial Trillas. 259-266. 1991.
31. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 2004. [citada 20 Ago 2007]. Disponible en:  
<http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/revvetmex/a1999/rvmv30n1/rvm30102.pdf>
32. Correa GP. Algunos aspectos de la nefrosis aviaria y de la enfermedad producida por el agente infeccioso de la bolsa de Fabricio en México. Téc. Pec. en México 1969: 98-104.

33. Cascante R. Evaluación serológica y morfológica de la respuesta inmune humoral en pollos de engorda vacunados a los días 1 y 9 de edad con dos cepas medianamente virulentas del virus de la Infección de la Bolsa de Fabricio. (Tesis de Licenciatura) México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 1998.
34. Cheville N.F. Studies on the pathogenesis of Gumboro disease in the bursa of Fabricius, spleen, and thymus of the chicken. *Am. J. Pathol* 1967; 51: 527-551
35. Riddell C. *Avian Histopathology*. American Association of Avian Pathologists. Pennsylvania USA, 1987.
36. Sharma JM, Dohms JE, Metz AL. Comparative pathogenesis of serotype 1 and variant serotype 1 isolates of infectious bursal disease virus and their effect on humoral and cellular immune competence of specific-pathogen-free chickens. *Avian Dis* 1989; 33:112-124.
37. Inoue M, Fukuda M, Miyano K. Thymic lesions in chicken infected with infectious bursal disease virus. *Avian Dis* 1994; 38: 839-846.
38. Lucio B, Hitchner S.B. Immunosuppression and active response induced by infectious bursal disease virus in chickens with passive antibodies. *Avian Dis* 1980; 24:189-196.
39. Kibenge FSB, Dhillon AS, Russell RG. Identification of serotype II infectious bursal disease virus proteins. *Avian Pathol*. 1988; 17:679-689.
40. Weinstock D, Mc Ree WA, Suyemoto MM, Ficken M.D. Late IBDV Challenge of a commercial broiler flock: immunologic assessment and performance. *Proc. of the Forty-Fourth Western Poultry Disease Conference*. Sacramento Cal. 1995, 59, WPDC Davis CA. 1995.
41. Howie RI, Thorsen, J. Identification of strain of infectious bursal disease virus isolated from mosquitoes. *J. Comp. Med* 1981; 45:315- 320.

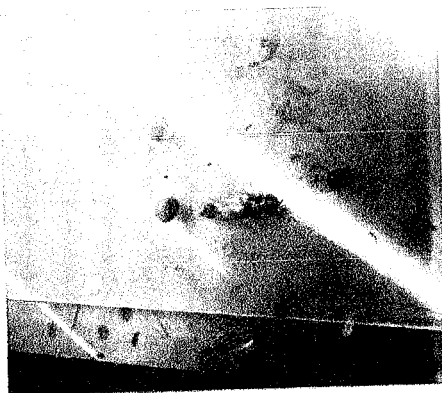


42. McAllister JC, Steelman CD, Newberry NL, Skeeles JK. Isolation of infectious bursal disease virus from the Lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer). *Poult. sci* 1995; 74:45-49.
43. Barnes HJ, Wheeler J, Reed D. Serological evidence of infectious bursal disease virus infection in Iowa turkeys. *Avian Dis* 1982; 26: 560-565.
44. Jackwood DJ, Saif YM, Hughes HH. Characteristics and serologic studies of two serotypes of infectious bursal disease virus in turkeys. *Avian Dis* 1982; 26: 871-882.
45. Jackwood DJ, Saif YM. Prevalence of antibodies to infectious bursal disease virus serotypes Y and II in 75 Ohio chicken flocks. *Avian Dis* 1983; 27: 850-854.
46. Ferran JB, McNulty MS, McKillop ER, Connor TF, McCracken RM, Collins DS, Allan GM. Isolation and serological studies with infectious bursal disease from fowl turkeys and ducks: Demonstration of a second serotype. *Avian pathol.* 1980; 9: 395 – 404.
47. Panigrahy B, Misra LK, Adams LG. Humoral and cell-mediated immune responses in chickens with Infectious Bursal Disease. *Vet. Microbiol* 1982; 7: 383 – 387.
48. Higashihara M., Saijo K., Fujisaki Y, Matumoto M. Immunosuppressive effect of infectious bursal disease virus strains of variable virulence for chickens. *Vet. Microbiol* 1991; 26: 241 - 248.
49. Tizard I. *Inmunología veterinaria*; tercera edición. Interamericana, México, 1987.
50. Allan WH, Faragher JT, Cullen GA. Immunosuppression by the infectious bursal agent in chickens immunized against Newcastle disease. *Vet Rec* 1972; 99: 511-512.
51. Glick B. The immune response in the chicken: lymphoid development of the bursa of Fabricius and thymus and an immune response role of the gland of Harder. *Poultry Sci* 1978; 57: 1441 – 1444.

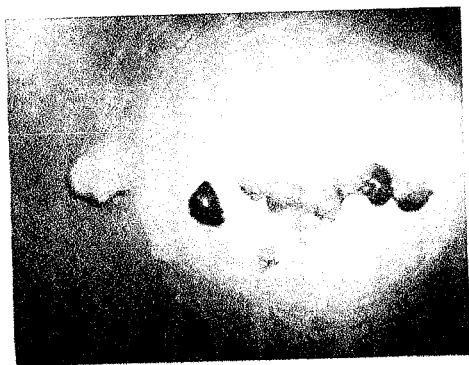
52. Antti M, Minna S, Timo V, Olli V, Kaisa G, Paavo T. B cell maturation in the chicken Harderian gland. *Jour of immunol* 1989; 142: 1826 – 1833.
53. Survashe BD, Aitken ID and Powell JR. The response of the Harderian gland of the fowl to antigen given by the ocular route. I. Histological changes. *Avian Pathology* 1979; 8: 77-93.
54. Dohms JE and Jaeger J. The effect of infectious bursal disease virus infection on local and systemic antibody response following infection of 3 - week - old broiler chickens, *Avian Diseases* 1987; 32: 632 - 640.
55. Powell JR, Aitken ID and Survashe BD. The response of the Harderian gland of the fowl to antigen given by the ocular route. II. Antibody production. *Avian Path* 1979; 8: 363-373.
56. Baba T, Kawata T, Masumoto K, Kajikawa T. Role of the Harderian gland in immunoglobulin A production in chicken lacrimal fluid. *Research in Veterinary Science* 1990; 49: 20 – 24.
57. Akaki C, Simazu M, Baba T, Tsuji S, Kodama H, Mukamoto M, Kajikawa T. Possible migration of Harderian gland immunoglobulin A bearing lymphocytes into caecal tonsil in chickens. *J. Vet. Med. B* 1997; 44: 199 – 206.
58. Dohms JE, Lee KP, Rosenberger JK and Metz AL. Plasma cell quantitation in the gland of Harder during infectious bursal disease virus infection of 3 - week - old broiler chickens. *Avian Disease* 1988; 32: 624 - 631.
59. Beard CW. Serologic Procedures in: *A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens*. Edited by Purchase, H.G., 192-200. American Association of Avian Pathologists, Pennsylvania, USA 1989.
60. Becht H, Müller H. Comparative studies on structural and antigenic properties of two serotypes of infectious bursal disease virus. *Jour. Gen. Virol.* 1988; 69: 631 – 640.



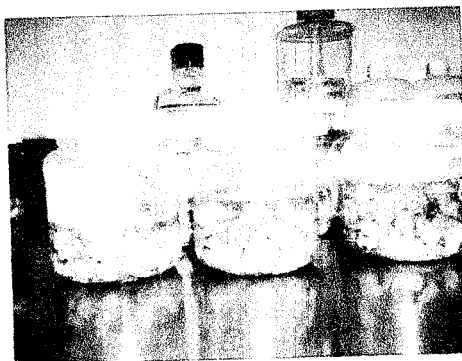
Órganos linfoides (BC, bazo, timo)



Órganos linfoides (BC, bazo, timo)



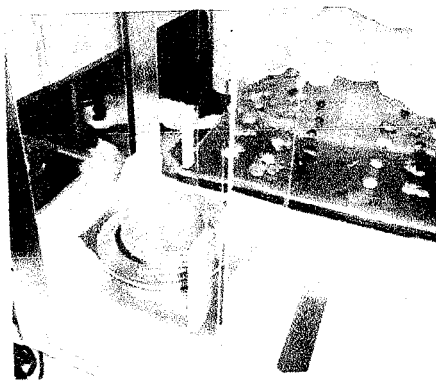
Órganos linfoides (BC, bazo, timo)



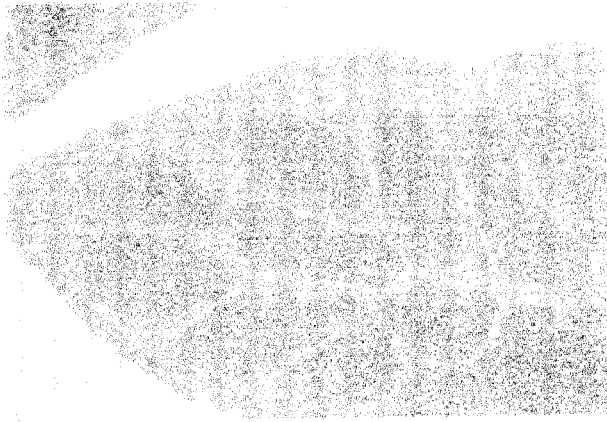
Toma y envío de muestras.



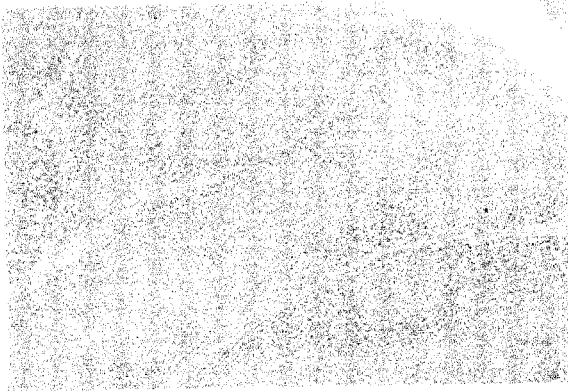
Pesado de órganos linfoides.



Pesado de órganos linfoides.



Vista microscópica de los folículos linfoides de la BC.



Vista microscópica de los folículos linfoides de la BC.